

Maggio di
Gianen
7144

Ulteriori ricerche su l' Anaemia infantum
a Leishmania

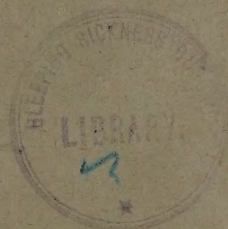
per il

prof. G. PIANESE
titolare di Istologia patologica

*Presentatum to Academy Med.
Chir. { Nov 1907 +
{ Jan 1908.*



Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
N. 2. — 1908.



NAPOLI

TIP. CAV. A. TOCCO E SALVIETTI

Via Nilo, 34, p. p. nobile
1908.

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY	
Coll.	weTROmec
Call	pam
No.	WC 715
	1908
	P 58u



22200147013

Ulteriori ricerche su l' Anaemia infantum a Leishmania

per il

prof. G. PIANESE
titolare di Istologia patologica

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
N. 2. — 1908.

NAPOLI
TIP. CAV. A. TOCCO E SALVIETTI
Via Nilo, 34, p. p. nobile
1908.

Col nome di *anemia splenica infantile* da HENOCHE, *malattia di Henoch* da FEDE, *anemia splenica infettiva* da SOMMA, *pseudoleucemia infantile infettiva* da CARDARELLI, *anaemia infantum pseudoleucemica* da IAKSCH e MONTI, *anemia pseudoperniciosa infantile* da EHRLICH viene descritta una speciale malattia che si riscontra nei bambini, nel primo anno di loro vita o poco appresso; è caratterizzata da anemia profondissima, febbre atipica, cospicuo tumore di milza, lieve aumento di volume del fegato, spesso edemi diffusi ed emorragie cutanee; e termina il più delle volte con la morte.

Cotesta malattia che dal punto di vista clinico pare abbastanza ben definita, non presenta dal punto di vista anatomo-patologico ed ematologico caratteri speciali o costanti; che il reperto istopatologico, specialmente della milza, delle ghiandole linfatiche, del midollo delle ossa e del fegato, varia da un caso all'altro e quello ematologico è diverso nei vari casi ricercati.

Nè minore discrepanza regna fra gli autori sulla patogenesi di cotesto morbo, poichè mentre per alcuni (IAKSCH, HAYEM, LUZET) è una vera entità idiopatica, per altri (FISCH, EBSTEIN, MARFAN, SIEGERT, STENGEL, LABBÈ) non è che una sindrome fenomenica che può riconoscere varii momenti etiologici, una *anemia sintomatica* secondaria al rachitismo, alla sifilide ereditaria (LABBÈ), alla tubercolosi (FRIZZONI), ai disturbi gastrointestinali cronici (CONCETTI, IEMMA), alla incongrua o insufficiente alimentazione (GUIDA), e così via. E mentre per alcuni è di origine infettiva (D'ANTONA e SALVATI, FEDE, GIANTURCO e PIANESE), per altri è di origine autotossica (per IEMMA è la tossina del bacterium coli, per SCALESE è il diabete della madre), e di quelli che la ritengono da infezione, D'ANTONA e SALVATI incolpano un bacillo, FEDE un cocco, GIANTURCO e PIANESE un bacillo con caratteri e ubicazione speciali.

E ancora: LUZET, MYA e TRAMBUSTI e di recente DOMINICI sostengono che il morbo è dovuto ad un ritorno allo stato fetale degli organi ematopoietici, perchè nell'anemia splenica infantile il fegato acquista caratteri istologici in tutto simili a quelli del fegato fetale, come già MARTIN B. SCHMIDT notò nella leucemia; e CIACCIO crede che la malattia sia dovuta ad una diminuita resistenza globulare, la quale può essere congenita o acquisita, e perciò si hanno due forme di anemia splenica, l'essenziale e la sintomatica, delle quali la prima è difficilmente curabile, e l'altra è curabile più o meno secondo la curabilità maggiore o minore della malattia, che all'anemia splenica ha dato origine.

Ora tutta questa discrepanza di reperti istologici e batteriologici fecero nascere in me, egli è parecchi anni, la convinzione che sotto il nome di anemia splenica o pseudoleucemia infantile venissero dagli autori descritte forme morbose etiologicamente diverse, le quali non la clinica, ma la batteriologia e la protistologia da un lato, la ematologia e la istologia dall'altro potevano nettamente differenziare l'una dall'altra.

Ed è per questo che, dopo la pubblicazione delle ricerche fatte con GIANTURCO nel 1893, io ho continuato da solo una lunga serie di indagini che mi hanno condotto alle conclusioni che oggi espongo per intero, e che in parte ho riferite al Congresso dei patologi in Roma, nel maggio del 1905.

E le prime indagini — come dissi al Congresso dei patologi — furono dirette a controllare me stesso, cioè le ricerche da me fatte con GIANTURCO, essendomi, appena dopo pubblicato il lavoro, sorto il dubbio, che il bacillo da noi descritto nella milza, nel fegato ecc. in questi organi fosse pervenuto dopo la morte. E poichè in una prima autossia di un bambino con diagnosi di anemia splenica, praticata appena un'ora dopo la morte, le culture riescirono sterili ed entro gli organi non riscontrai alcun bacillo libero, quantunque certe cellule della milza, del fegato e del midollo delle ossa fossero tutte ripiene di speciali granuletti tingibili con i colori basici; e in un'altra autossia di un bambino con diagnosi di anemia splenica, praticata 36 ore dopo la morte, le culture riescirono positive, e negli organi riscontrai numerosissimi bacilli in tutto identici a quelli da GIANTURCO e da me descritti, mentre che entro le cellule della milza del fegato e del midollo non esisteva traccia di granuli tingibili; mi convinsi che il bacillo riscontrato fuori delle cellule da GIANTURCO e da me non fosse il microrganismo specifico dell'ane-

mia splenica ma il bacterium coli — come nel secondo caso delle nuove ricerche le culture dimostrarono, — pervenuto *post-mortem* negli organi, e quei granuli intracellulari, messi bene in evidenza con uno speciale mio metodo di colorazione, non rappresentassero perciò forme involutive del bacillo estracellulare.

E allora mi domandai:

1.° che cosa sono quelle produzioni intracellulari basofili?

2.° si riscontrano esse costantemente in tutti i bambini affetti da quella malattia che i clinici dicono anemia splenica?

3.° e sono esse specifiche per questa malattia, o meglio, si riscontrano in questa esclusivamente?

E alla prima di queste domande, nella comunicazione del 1905, dopo aver descritto la forma, la struttura, la grandezza, la ubicazione di coteste produzioni, rispondevo così: “ che coteste produzioni speciali non sieno granuli di secrezione a me pare e per la loro costituzione e per la loro reazione cromatica, e perchè si riscontrano in cellule che in nessuna epoca della loro vita presentano fenomeni di secrezione. Che non sieno granuli da cariolisi o da carioressi credo di poter affermare perchè si riscontrano anche in cellule con nucleo perfettamente integro; e infine che non sieno da trasformazione dei granuli protoplasmatici esistenti nelle cellule fetali credo di poter asseverare perchè si riscontrano anche in organi, come la milza, che non accennano a un ricorso fetale. Ma, d'altra parte, che non sieno batteri sol perchè i numerosi tentativi da me fatti per coltivarli aerobicamente e anaerobicamente sono riusciti infruttuosi, io non posso concludere; ed escludere che sieno protozoi sol perchè nei numerosi preparati a fresco in goccia pendente, osservati sul tavolino riscaldabile, io non sono finora riuscito a scovire alcun accenno a moltiplicazione o alcun movimento, io non credo giusto „.

E conchiudevo che nell'animo mio si era fatta strada *non la certezza, ma la fede* che quelle speciali produzioni non erano dei batteri, perchè, pur ammettendo che i parassiti vegetali sono vere cellule fornite di nucleo e protoplasma, per mettere in evidenza quello e questo occorrono metodi speciali e anche con questi nè il nucleo nè il protoplasma appaiono nettamente differenziati; ma erano dei protisti, e non coccidi, non tripanosomi in fasi involutive ma protisti del genere *Leishmania* (Ross), o *Piroplasma* Donovanì (LAVERAN e MESNIL), perchè erano simili, se non identici, a quello che ave-

vano descritto prima LEISHMANN nella milza di un uomo morto per febbre contratta in Dun Dun e poco appresso DONOVAN nella polpa splenica aspirata in vita da un infermo di febbre tropicale.

eran in felus per Carnelo in Tavis
bestemmia per 22.1904.

* *

Ora le ulteriori mie ricerche protistologiche, istopatologiche e ematologiche, condotte a termine — dal maggio 1905, data della mia comunicazione al congresso dei patologi, al novembre 1907, data della dimostrazione di numerosi preparati fatta a questa illustre Accademia medico-chirurgica — su due nuove autossie e su quattro infermi con diagnosi clinica di anemia splenica, e la revisione, con nuovi metodi di indagini, di tutto il ricco materiale proveniente dalle altre dodici autopsie, mi conducono oggi non alla fede, ma alla certezza che quelle speciali produzioni sono dei parassiti animali, dei protisti del genere *Leishmania* (Ross).

Come fissatori degli organi e tessuti delle due nuove autossie ho usato il liquido di Foà, quello di Zenker, il sublimato alcoolico acetico, l'alcool assoluto e la mia miscela di cloroplatinato di soda, acido osmico e acido acetico: e ho colorati i tagli dei pezzi fissati in Foà e in Zenker con la mia miscela di ematossilina, orange e eritrosina, previa mordenzatura in allume ferrico; quelli dei pezzi fissati in sublimato alcoolico acetico e in alcool assoluto, con il liquido di Giemsa o con la vecchia mia miscela di bleu di metilene ed eosina in carbonato di litina; e quelli dei pezzi fissati nel mio fissatore con la mia miscela colorante idroalcoolica con acetato di rame verde malachite, orange, fuxina acida. Del parenchima degli organi e del sangue della vena splenica e del seno destro delle due autopsie, e del sangue periferico e del succo della milza aspirato in vita dai quattro infermi ho fatti preparati per strisciamento su lastrine, e li ho fissati in alcool assoluto, in alcool ed etere e nella mia miscela fissatrice composta di acido picro-solforico, sublimato e cloruro di cobalto e colorati col Giemsa o con il mio metodo all'orange, eritrosina e verde di malachite in carbonato di potassa.

Nè questa molteplicità di metodi di fissazione e di colorazione è un lusso o peggio ancora, una perdita di tempo; perchè con uno di questi metodi si riesce a mettere in evidenza particolarità di struttura dei parassiti o speciali alterazioni delle cellule nelle quali si annidano, che con l'altro o sfuggirebbero o riuscirebbero poco

evidenti. Così, per esempio, mentre del parassita il nucleo e più ancora il piccolo punto cromatico simile al centrosoma o blefaroblasta dei tripanosomi sono messi in evidenza con la fissazione in alcool assoluto, in sublimato, nella mia miscela di acido picrosolforico, sublimato ecc. e con la colorazione col Giemsa e col mio metodo del bleu di metilene e eosina in carbonato di litina; il protoplasma e la sottile membranella del parassita appaiono più manifesti con la fissazione in Foà o in Zenker e colorazione in emotossilina, orange, eritrosina previa mordenzatura in allume ferrico; e le alterazioni delle cellule invase e le speciali degenerazioni dei parassiti stessi sono messe in evidenza con più nitidezza con la fissazione nella mia miscela osmio-platino-acetica e colorazione con verde malachite, orange e fuxina acida.

Amalgamando ora e sintetizzando il risultato dell'osservazione dei vari preparati, con i diversi metodi approntati dai tessuti ed organi di sei bambini venuti a morte, e dal succo della milza e dal sangue di due bambini in vita, con diagnosi clinica di anemia splenica e reperto positivo della Leishmania, la *morfologia* del parassita può essere riassunta nelle seguenti proposizioni, che confermano e completano quelle da me brevemente enunziate nella comunicazione fatta al Congresso dei patologi in Roma, nel 1905.

Forma. La forma del parassita è ordinariamente ovalare, ma anche piriforme e rotonda. Nei tagli degli organi fissati le forme ovalare e a pera predominano nel midollo delle ossa; la rotonda nel fegato e nella milza, e più in quello che in questa: però nei preparati per strisciamento su lastrine, approntati dal succo della milza aspirato in vita, o dal parenchima degli organi dopo la morte, la forma del parassita appare quasi sempre ovalare o a pera, che per la manovra dello strisciamento anche le forme rotonde assumono artificialmente aspetto ovalare o piriforme. Nè il predominio di una forma su l'altra varia soltanto secondo gli organi, che essa varia anche da bambino a bambino, secondo — a me pare — il decorso più o meno rapido assunto dal morbo, avendo io riscontrato in generale negli organi invasi dal parassita maggior numero di forme rotonde quando il morbo aveva avuto decorso acuto, maggior numero di forme ovalari e a pera quando aveva assunto decorso più cronico.

Ubicazione. Nei tagli degli organi fissati i parassiti si riscontrano sempre entro speciali cellule, e nello spazio protoplasmatico di queste, mai nello spazio nucleare, fino a tanto che del nucleo

permane la membranella di anfiripina. All'incontro nei preparati per strisciamento su lastrine, approntati dal succo della milza aspirato in vita o dal parenchima degli organi dopo la morte, i parassiti si riscontrano anche fuori delle cellule, e il numero di cotesti parassiti estracellulari è discreto nei preparati dal succo della milza del vivente, notevole nei preparati dal parenchima di organi provenienti da autopsia praticata prima delle dodici ore dalla morte, cospicuo nei preparati approntati dal parenchima di organi dopo ventiquattro o più ore dalla morte. Nè cade alcun dubbio che questa estracellularità del parassita è indotta dall'artefizio della preparazione, per il quale artefizio i parassiti sono — direi — spremuti fuori della cellula e con più o meno facilità, e perciò in maggiore o minore copia a seconda che la cellula o per le sole alterazioni indottevi dal parassita (come nel succo della milza del vivente) o per queste e quelle dipendenti dalla putrefazione, ha poca o nessuna resistenza. E che sia fenomeno puramente artificiale viene anche dimostrato dal fatto che nei preparati per strisciamento del midollo delle ossa, oltre i parassiti liberi si riscontrano libere numerose granulazioni ossifili e finanche frustoli di nuclei.

Numero. Il numero dei parassiti varia di molto per ogni cellula, chè vi hanno cellule che ne contengono in numero esiguo — 2 a 5, 10 — e cellule che ne contengono in numero straordinario — 50, 60 e fin 100 e anche più — E quando sono numerosi essi sono quasi sempre raggruppati in cumoli di 10 e più, e spesso ciascun cumolo ha tutto all'intorno una listarella di protoplasma addensato che forma come una specie di capsula.

È certo che se un cosiffatto cumolo di parassiti è posto contro il nucleo, respinge questo verso la parete cellulare, e l'insena dalla sua parte. Entro lo spazio protoplasmatico i parassiti non hanno posto speciale: possono riscontrarsi tutti accumulati in un polo della cellula, come sparsi per tutto il corpo protoplasmatico, o anche — come ho detto — nello spazio nucleare, quando del nucleo sia scomparsa anche la membranella di anfiripina. Pare però che quando sono in picciolo numero essi si riscontrino più verso la membrana cellulare che verso quella nucleare.

Grandezza. La grandezza dei singoli parassiti entro la stessa cellula, e entro le cellule dell'istesso organo è pressocchè uguale. Nel fegato incontra però spesso di osservare che, accanto a cellule con parassiti di notevole volume, esistono cellule con parassiti di molto piccolo volume, qualche volta appena di poco più grandi di

un cocco. E il volume del parassita varia con la forma sua: quando ha forma rotonda misura da 3 a 3,5 μ ; quando l' ha ovalare, ha un maggior diametro di 3,5-4 μ , e un diametro di larghezza di 2-2,8 μ ; quando l' ha piriforme, misura in lunghezza 3,8-4 μ , e nell'estremo rigonfio 2,5-2,9 μ . Le forme picciolissime, ordinariamente rotonde, hanno diametro di 1-1,5 μ .

Struttura. Con la forma e il volume varia la struttura del parassita nelle singole cellule e nei singoli organi. È nei parassiti a forma ovalare o piriforme — e perciò nel midollo delle ossa e anche nella milza — che la struttura appare più completa e manifesta. Allora il parassita appare nettamente costituito da una *membranella*, da scarso *protoplasma*, da un *nucleo* o *grande cariosoma*, da un *centrosoma* o *blefaroplasto* o *piccolo cariosoma*. La membranella è sottilissima e mai a doppio contorno; il protoplasma è tenuissimo, finemente granuloso, mai vacuolare, e in maggior copia addossato alla membranella; il nucleo ha forma rotondeggiante, misura pressochè 2 μ ed ora non presenta alcuna struttura ed è come picnotico, ora ha orlo nucleinico più spesso e più intensamente colorabile e un corpo centrale più tenue e più pallidamente colorabile, ora mostra come un groviglio di sottili fili nucleinici, cosparso di punti nodali; e il blefaroplasto ha forma varia, qualche volta rotonda, e misura 0,5 μ , spesso come un corto e tozzo bastoncino di meno di 0,5 μ di diametro trasversale e di 1,5 e anche più di diametro longitudinale, e si colora più intensamente del nucleo e spesso metacromaticamente. Il nucleo giace sempre nel polo di maggior diametro del parassita; il blefaroplasto nel polo opposto, a distanza varia dal nucleo; e quando assume aspetto bastonciforme, ora è disposto tangenzialmente ora perpendicolarmente al nucleo. Quando il parassita ha forma rotonda, la membranella, il protoplasma e il nucleo sono manifesti, anzi il protoplasma è in maggior copia e più granuloso e il nucleo ha maggior volume; ma il blefaroplasto il più delle volte manca.

E infine, quando il parassita è di picciolissimo volume, poco più grande di un grosso cocco, esso è ridotto alla più semplice espressione: un grumetto di protoplasma, con un nucleo, e il protoplasma non ha alcun ispessimento periferico che formi come una membranella.

Qualunque sia la forma del parassita, mai io ho notati veri flagelli o accenni di flagelli.

Nei preparati per strisciamento dal succo della milza del vivente, fissati in alcool e etere e colorati col Giemsa, la struttura appare in tutto simile a quella innanzi descritta per i tagli di midollo delle ossa e della milza; però in questi preparati appare con maggiore evidenza la metacromasia del blefaroblasto, che si colora in rosso violaceo o in lilla, mentre il nucleo assume un colorito ora bluastrò ora violetto.

Moltiplicazione. Fenomeni di vera divisione o di conati di divisione mitotica o amitotica del parassita nei preparati fissati e colorati io non ho mai riscontrati: ho visto qualche volta due parassiti ovalari o piriformi addossati l'uno all'altro per il loro maggior diametro, ma ho avuto più l'impressione di un fenomeno di coniugazione che di divisione.

Nè in preparati a fresco, in goccia pendente sul tavolino riscaldabile io ho mai osservato alcun accenno a moltiplicazione.

Tentativi di cultura. Dopo la mia comunicazione al congresso dei patologi, convinto che il parassita da me riscontrato in sei casi di anemia splenica era simile, morfologicamente, al parassita da LEISHMANN riscontrato nel Kala azar, ho cercato di ottenerne la cultura dal succo della milza aspirato in vita, sperando che mi sarebbe riuscito, così come per il parassita del Kala azar era felicemente riuscita a ROGERS prima e, dopo a CHATTERJEE, CHRISTOPHERS, LEISHMAN e STATHAM e MACKENZIE.

Ma devo francamente confessare che, pur avendo impiegato così l'antico mezzo di cultura di ROGERS (sangue al citrato di soda al 10 ‰), come il più recente terreno culturale dell'istesso autore (sangue di coniglio al 10 ‰ di citrato di soda addizionato di piccola quantità di una soluzione di acido citrico), culture del parassita fino a questo momento io non ho ottenuto; ma non dispero di essere, in seguito, più fortunato.

Organi ed elementi cellulari nei quali si riscontrano i parassiti. Ho innanzi detto che i parassiti sono sempre intracellulari: ma in quali organi e in quali cellule di questi si riscontrano?

Io li ho finora riscontrati nella milza, nel fegato e nel midollo delle ossa; e per quante indagini avessi fatte non mi è, almeno finora, mai riuscito di scovarli nè nelle ghiandole linfatiche, nè entro i follicoli solitarii ed agminati dell'intestino, nè nei polmoni, nè entro gli eritrociti e i leucociti e così del sangue dei vasi periferici in vita, come dei vasi profondi, e specialmente della vena splenica, dopo la morte.

E nella milza, nel fegato e nel midollo delle ossa essi si annidano entro cellule che hanno volume e aspetto pressochè identici. Misurano queste da 25 a 30 μ , e nella milza e nel midollo delle ossa hanno figura ordinariamente ameboide con contorno cinci-schiato o spinoso, mentre nel fegato hanno forma rotondeggiante o ovalare e contorno netto. Nelle une come nelle altre il protoplasma è tenuissimo e appena un pò raddensato alla periferia e attorno al nucleo: e il nucleo è ora perfettamente integro, ora più o meno in via di necrosi, qualche volta picnotico, spesso in carioressi, qualche volta in cariolisi, raramente scomparso del tutto. E le alterazioni del nucleo e più ancora del protoplasma sono in ragione diretta del numero dei parassiti che entro le cellule si riscontrano, quantunque questo non possa dirsi in modo assoluto.

Nella milza coteste cellule giacciono ordinariamente nella polpa, o entro le lacune sanguigne, o — più di rado — addossate alle pareti vasali così all' interno come all' esterno di queste. Entro il follicolo d' ordinario non se ne riscontrano, e quando esistono giacciono in cumuli attorno all' arteria dei follicoli.

Nel fegato non si riscontrano che entro i capillari degli acini, e più nella zona media dell' acino (" *sternzellen* ", di KUPFFER o " *Wandzellen* ", di Browicz). Nel midollo all' incontro non hanno ubicazione speciale, quantunque si riscontrino, per lo più, a formar parte dell' apparecchio connettivo-vascolare. Nella milza, e spesso anche nella midolla ossea si raggruppano in cumuli di dieci e fin venti cellule; nel fegato sono quasi sempre isolate o asseriate, talvolta ancora aderenti alle pareti dei capillari, tal' altra libere nel lume del vasellino enormemente dilatato.

Il numero di coteste cellule, e perciò dei parassiti, varia da organo ad organo, ed anche da caso a caso. In maggior numero ne contiene il midollo delle ossa, in minor numero il fegato; e nei casi a decorso cronico, il numero delle cellule con parassiti è di molto più cospicuo di quello che si riscontra nei casi a decorso acuto o subacuto. In uno dei sei casi, a decorso molto protratto, coteste cellule sono nella milza e più nel midollo delle ossa così numerose che in quella tutta la polpa risulta costituita in massima parte da esse, e nel midollo solo di tanto in tanto si riesce a vedere pochi mielociti ossifili, neutrofili e basofili e qualche megacariocita.

Nella milza il numero maggiore di coteste cellule si riscontra al di sotto della capsula e in vicinanza delle grosse gettate con-

nettivali: e nel fegato, nei capillari degli acini più vicini alla capsula di GLISSON e agli spazi di KIERNAM.

Mai i parassiti si riscontrano entro le cellule epatiche, mai nei mielociti e nei megacariociti del midollo delle ossa, mai nei linfociti della milza; mai entro gli eritrociti del fegato, della milza, del midollo delle ossa.

Risulta dunque, da tutto quello che innanzi ho esposto, che i parassiti si annidano entro cellule connettivo-vascolari, o mesenchimali; le quali o hanno di già — come nella milza e anche nel fegato —, o assumono eventualmente — come nel midollo delle ossa — aspetto e funzione di macrofagi; ma, nella milza e forse nel fegato, anche entro quelle speciali cellule che RENAULT chiamò perivascolari, e che sono delle cellule mesenchimali mobili che si portano verso i capillari e secernono fibre collagene che contribuiscono a formarne le pareti.

E risulta inoltre che delle due serie di macrofagi — quelli che provengono dalle varie forme di cellule connettivo-vascolari, e quelli che si originano dalle cellule mononucleari del sangue e della linfa — soltanto la prima sia impegnata — se attivamente o passivamente vedremo in seguito — dal parassita; e delle due specie di macrofagi di questa serie sieno interessati, se non esclusivamente, molto di più i fissi che i mobili.

Certa cosa è però che appare di non facile intendimento il fatto che non entrino in gioco nè i macrofagi delle ghiandole linfatiche e i megacariociti del midollo delle ossa, nè i microfagi della milza, del midollo, ecc. e del sangue.

Che non entrino in gioco i microfagi potrebbe, fino a un certo punto, essere spiegato dalla constatazione che l'anemia splenica infantile è morbo infettivo cronico; e, secondo METCHNIKOFF e i suoi allievi, i microfagi sono impegnati principalmente se non esclusivamente contro i microfiti o microzoi ad evoluzione rapida, mentre i macrofagi sono destinati a lottare contro i germi più resistenti e a sviluppo lento, che danno luogo a infezioni croniche.

E similmente si potrebbe sostenere che i macrofagi delle ghiandole linfatiche non sono interessati perchè nelle ghiandole non si annidano parassiti (e resterebbe sempre però a spiegare perchè nelle ghiandole non si riscontrano parassiti, quando se ne riscontrano, e in così gran numero, nella milza); ma questa stessa ragione non potrebbe addursi per i megacariociti, perchè nel midollo delle ossa di parassiti si riscontrano in grande copia. Senonchè io

domando se i megacariociti sono davvero dei macrofagi; chè io mi permetto di dubitarne, e specialmente per questo che riscontro nell'anemia splenica; non ostante che per la loro forma, per l'atteggiamento del protoplasma, per il numero dei nuclei che posseggono, VAN DER STRICHT e molti altri li credano dei macrofagi.

Ma ancora più ardua cosa è spiegare perchè i parassiti si riscontrano soltanto nella milza, nel fegato e nel midollo delle ossa; perchè quantunque io non voglia escludere a priori che in future autopsie io possa in essi rinvenirli, è cosa certa che, nei sei casi finora studiati, negli altri organi non li ho rinvenuti. Forse la spiegazione potrebbe essere trovata nel fatto che la circolazione sanguigna nella milza, nel midollo e anche nel fegato — che nell'anemia acquista caratteri embrionarii — è o diventa pressocchè lacunare, onde in questi organi, più che altrove, i parassiti — poichè l'infezione deve ritenersi ematogena — avrebbero agio di invadere le cellule o di essere da queste aggrediti.

Classificazione dei parassiti. Comunque, il parassita da me rinvenuto in casi di anemia splenica infantile ha caratteri morfologici e biologici simili a quelli che LEISHMANN per il primo e DONOVAN ed altri dopo, hanno riscontrato nel Kala azar, e WRIGHT nell'ulcera tropicale, e CHRISTOPHERS in casi di splenomegalia delle Indie e MARCHAND in un caso di così detto morbo di BANTI, ecc.

Ed io dovrei ora, per il parassita da me riscontrato, affrontare le questioni che sono state agitate, e ancora si agitano, sulla natura dei parassiti dai su mentovati autori descritti; e cioè se è: 1° un *Tripanosoma* o un'altra specie di Flagellati, in fasi degenerative, involutive o d'incistamento (LEISHMANN); 2° o una *Babesia*, *Piroplasma*, *Apiosoma*, *Piroplasma* (LAVERAN e MESNIL); 3° o una *Leishmania* (ROSS); 4° o spore di un *Mixosporidio* (CHRISTOPHERS).

Di certo se del parassita io avessi ottenuta la cultura e le varie sue fasi evolutive o involutive avessi potuto studiare in goccia pendente, la soluzione del problema mi riescirebbe molto più agevole di quello che non mi riesce ora che devo tentarla con la sola nuda indagine microscopica dei preparati di tessuti fissati. Nondimeno, nella speranza che sulla questione mi sia dato di tornare con il migliore e maggiore ausilio della cultura in un non lontano avvenire, qualche cosa voglio dire di ciò che sulla natura del parassita risulta dalle mie ricerche.

1.° Che il parassita da me descritto non rappresenta fasi nè degenerative, nè involutive, nè d'incistamento di un *Tripanosoma*

o di un qualsiasi altro Protozoa del gruppo dei Flagellati, ma fasi evolutive di un Protista, probabilmente del gruppo dei Flagellati, a me pare di poter affermare.

Io ho innanzi detto, che entro le cellule il parassita si può riscontrare sotto tre forme, per volume figura e struttura, diverse: la prima grande, ovalare o piriforme, a membrana protoplasma, nucleo e blefaroblasto; la seconda di media grandezza, rotonda, a membrana protoplasma e nucleo; la terza di minima grandezza, rotondeggiante, a nucleo e scarso alone protoplasmatico. Ora se queste tre forme rappresentano tre fasi del parassita, l'ultima deve essere considerata come la più involuta o come la meno evoluta? o, con altre parole, rappresenta essa la fase finale della involuzione o degenerazione intracellulare del parassita, o la fase iniziale del ciclo evolutivo che il parassita percorrerà entro la cellula?

E la risposta non è certo agevole; ma, poichè le cellule ove si riscontrano le forme più grandi e di più complicata struttura, sono più profondamente alterate e quelle ove si riscontrano le forme più piccole e di più semplice struttura sono poco o nulla alterate, parrebbe giusto indurne che le tre forme rappresentano tre fasi del ciclo di evoluzione del parassita, e che di esse la più piccola e di più semplice struttura sia la prima o iniziale.

E se questa conclusione non pare inverosimile seguirebbe che le cellule entro le quali si riscontrano i parassiti, più che funzione di macrofagi, compiono ufficio — direi — di terreno di cultura per il parassita da me descritto, così come lo compiono le cellule dei biliari per il Coccidio oviforme del coniglio.

E seguirebbe ancora che, avendo io notato come la forma ovalare — più evoluta — si riscontra più nel midollo delle ossa, che nella milza; la rotonda di media grandezza — meno evoluta — più nel fegato che nella milza; e la rotonda di minima grandezza — poco evoluta o iniziale — soltanto nel fegato, seguirebbe — dicevo — che l'organo nel quale il parassita prima si colonizza è il midollo delle ossa, segue subito dopo la milza, e viene in ultimo il fegato, non escludendo che, ove la malattia durasse più a lungo, potrebbero in seguito essere invasi dal parassita le ghiandole linfatiche, e forse altri organi. E in questa opinione, sulle tappe della infezione, io sono confortato dall'osservazione clinica, la quale dimostra che il fegato aumenta e sempre modicamente di volume soltanto a malattia molto inoltrata, e qualche volta anzi non aumenta affatto.

2.° Che i parassiti non sieno poi spore di mixosporidii a me pare di poter affermare con sicurezza, poichè io non conosco alcuna fase evolutiva o involutiva dei Mixosporidii nella quale questi assumono i caratteri morfologici che i parassiti da me riscontrati hanno nella fase loro più evoluta.

3.° Con minor sicurezza posso dire se sia o no una Babesia (Piroplasma Donovanii di LAVERAN e MESNIL). Di Babesia si distinguono due specie: quella piriforme (*Birnformen*) e quella rotonda (*rundliche Parasitenformen*), e la prima è fornita di due nuclei (macrosoma e microsoma), l'altra di un sol nucleo; e poichè io ho detto che il parassita da me descritto può assumere una forma rotonda a un sol nucleo senza centrosoma nel fegato e anche nella milza, e una forma ovalare o piriforme con un nucleo e un centrosoma (macronucleo o micronucleo) nel midollo delle ossa e anche nella milza, ne verrebbe logica la conseguenza che il parassita da me riscontrato sia una Babesia sotto le sue due speciali forme, la rotonda e la piriforme.

Senonchè la Babesia è parassita che vive nel sangue, entro gli eritrociti o per lo meno libera nel plasma; e il non aver io mai riscontrato il mio parassita, nè entro gli eritrociti, nè liberi nel plasma e così del sangue dei vasi periferici come di quelli profondi, mi induce a credere che il parassita, da me descritto, non sia una Babesia o Piroplasma.

4.° Inclino perciò a credere che, come il Ross opina per il parassita del Kala azar, esso costituisca una speciale forma parasitaria, che per ora deve essere denominata *Leishmania*, dal Leishman, che per il primo l'ha descritta nel Kala azar.

E dopo tutto quello che innanzi ho esposto delle ulteriori mie ricerche sull'anemia splenica infantile, io non ho che a confermare ciò che affermai al Congresso dei patologi nel 1905; e cioè che *in casi di anemia splenica infantile, entro speciali cellule (macrofagi) della midolla delle ossa, della milza e del fegato si riscontrano dei Protozoi, del genere Leishmania* (Ross).

*
* *

Ma cotesti parassiti si riscontrano costantemente in tutti i bambini con diagnosi clinica di anemia splenica?

Devo rispondere di no, poichè avendo finora ricercati, con i metodi finora descritti, tutti gli organi e tessuti di 14 bambini ve-

nuti a morte, e il succo della milza di 4 bambini affetti da simile morbo, soltanto in 6 di quelli e in 2 di questi io li ho riscontrati.

E allora, a rigor di logica, io dovrei concludere che quello da me descritto non è il parassita dell'anemia splenica infantile.

Senonchè il reperto è, quando esiste, cosiffattamente caratteristico che io sono indotto a tirare non la conseguenza su esposta, ma quest'altra: che, cioè, *sotto il nome di anemia splenica infantile si descrivono, per lo meno, due forme morbose etiologicamente diverse: una che riconosce come causa speciale un Protozoa, la LEISHMANIA, l'altra che ha genesi varia* (da sifilide, da rachitismo, da autointossicazione, da enterite cronica, da incongrua alimentazione, da tubercolosi, ecc.).

E in questa opinione io sono anche confortato dalla diversità dei caratteri clinici e dei reperti anatomico, istopatologico e specialmente ematologico delle due forme.

Ma delle *due forme di anemia splenica infantile differenti e differenziabili per etiologia per sintomi clinici e per reperti istopatologico e specialmente ematologico*, e dell'altra questione se la *forma parassitaria di anemia splenica* da me descritta è per etiologia, sintomi clinici e reperti istopatologico e ematologico in tutto identica al *Kala azar*, io — se mi permettono, illustri accademici — mi procurerò il piacere e l'onore di discorrervi in un'altra seduta.



